

DETEKSI *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* DENGAN PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS DAN TEKNIK PCR PADA PENDERITA TUBERKULOSIS PARU DI PUSKESMAS DARUL IMARAH

DETECTION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS WITH MICROSCOPIC AND PCR TECHNIQUES ON TUBERCULOSIS PATIENTS IN PUSKESMAS DARUL IMARAH

Raisuli Ramadhan^{1*}, Eka Fitria¹, Rosdiana¹

¹Loka Litbang Biomedis Aceh

Jl. Sultan Iskandar Muda Blang Bintang Lr. Tgk. Dilangga No. 9 Lambaro Aceh Besar

*Email : rayraisuliramadhan@yahoo.com

ABSTRAK

Tuberkulosis merupakan penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Penyakit tuberkulosis masih menjadi masalah utama kesehatan. TB menjadi penyebab kematian kedua terdepan penyakit menular di dunia. Indonesia menduduki peringkat kedua terbanyak setelah India dari enam negara yang menyumbang 60% dari total kejadian TB. *Mycobacterium tuberculosis* dapat dideteksi pada sputum dengan pemeriksaan mikroskopis, teknik Polymerase Chain Reaction (PCR), dan kultur bakteri. Aceh Besar menjadi urutan ketiga terbanyak penderita TB dan menyumbang 34 % jumlah seluruh kasus baru di Aceh. Penelitian bertujuan untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan pemeriksaan mikroskopik dan teknik PCR pada penderita tuberkulosis paru yang sudah menjalani pengobatan 2 bulan sampai 6 bulan di Puskesmas Darul Imarah Kabupaten Aceh Besar dengan jumlah sampel minimal 29 pasien TB aktif. Pengumpulan data dilakukan dengan wawancara dan pemeriksaan sputum secara mikroskopis dan teknik PCR. Data dianalisa secara deskriptif. Hasil penelitian didapatkan dari 29 responden hanya 1 sampel yang positif (3,4%) secara mikroskopis, sedangkan pemeriksaan dengan teknik PCR ditemukan 19 sampel yang positif (65,5%). Akurasi deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan teknik PCR sangat tinggi. *Mycobacterium tuberculosis* yang tidak terdeteksi dengan pemeriksaan mikroskopis (BTA) dapat dideteksi dengan teknik PCR. Sebaiknya hasil negatif pada pemeriksaan BTA secara mikroskopik dilanjutkan dengan teknik PCR guna menghindari salah diagnosis, mengingat PCR akurasinya tinggi.

Kata kunci : *Mycobacterium tuberculosis*, Mikroskopis, PCR

ABSTRACT

Tuberculosis is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberculosis is still a major health problem. TB is the second leading cause of death of infectious diseases in the world. Indonesia was ranked second after India from six countries accounted for 60% of total TB incidence. *Mycobacterium tuberculosis* can be detected on sputum by microscopic, Polymerase Chain Reaction (PCR) technic and culture. Aceh Besar District became the third largest TB patient and accounted for 34% of all new cases in Aceh province. The study aims to detect *Mycobacterium tuberculosis* by microscopic and PCR in patients with pulmonary tuberculosis who have been undergoing treatment for 2 months to 6 months at Puskesmas Darul Imarah Aceh Besar District with a sample size of at least 29 active TB patients. Data was collected by interview, sputum microscopic and PCR method. Data were analyzed descriptively. The results showed of 29 respondents only 1 positive samples (3.4%) are microscopic, while the examination with the PCR technic found 19 positive samples (65.5%). Accuracy of *Mycobacterium tuberculosis* detection with PCR technique is very sensitive. *Mycobacterium tuberculosis* undetected by microscopic (Gram positive basil) and detected by PCR technique. Should a negative result in microscopic and followed by PCR technique to avoid incorrect diagnosis as the accuracy of PCR technic.

Kata kunci : *Mycobacterium tuberculosis*, Microscopic, PCR

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) masih menjadi masalah utama kesehatan dunia yang bertanggung jawab terhadap kesehatan yang buruk bagi jutaan orang setiap tahunnya. Di seluruh dunia, TB menjadi penyebab kematian kedua terdepan penyakit menular setelah penyakit *Human Immunodeficiency Virus* (HIV). Terdapat 9 juta kasus TB baru tahun 2013, dimana 1,1 juta diantara orang yang HIV negatif dan 0,4 juta diantara orang dengan HIV positif.¹ Diperkirakan jumlah kematian akibat TB sebesar 61.000 tiap tahunnya.²

Data dunia, TB merupakan salah satu dari 10 penyebab kematian terbanyak. Tahun 2015 dilaporkan, sebanyak 10,4 juta orang menderita TB dan 1,8 juta diantaranya meninggal karena penyakit ini, termasuk 0,4 juta diantara orang dengan penyakit HIV. TB adalah pembunuh utama orang dengan HIV-positif, dimana 35% kematian akibat HIV penyebabnya adalah TB. Kematian akibat TB lebih dari 95% dan terjadi di negara berpendapatan rendah dan menengah. Terdapat enam negara yang menyumbang 60% total kejadian, dimana India berada pada peringkat atas disusul oleh Indonesia, China, Nigeria, Pakistan dan Afrika Selatan.³

TB merupakan penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Kuman berbentuk batang dan bersifat aerob ini tahan terhadap asam. Mayoritas infeksi TB terjadi melalui udara, yaitu inhalasi droplet yang mengandung kuman-kuman dari orang yang terinfeksi.⁴

Orang yang terinfeksi oleh *Mycobacterium tuberculosis* berisiko 10% untuk terjadinya TB paru. Orang dengan gangguan sistem kekebalan tubuh, seperti orang yang hidup dengan HIV, diabetes, kekurangan gizi, diabetes atau orang yang menggunakan tembakau, berisiko lebih tinggi untuk jatuh sakit.³

Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada sputum dapat dilakukan secara teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR), pemeriksaan mikroskopik, dan kultur bakteri.⁵ Pemeriksaan mikroskopis dahak adalah komponen kunci dalam program penanggulangan TB untuk menegakkan diagnosis, evaluasi dan tindak lanjut pengobatan dari pemeriksaan 3 spesimen dahak sewaktu pagi sewaktu (SPS). Pemeriksaan dahak secara mikroskopis merupakan pemeriksaan yang paling mudah, murah, efisien, spesifik dan dapat dilaksanakan di semua unit laboratorium.⁵ Deteksi kuman TBC dengan teknik PCR mempunyai sensitivitas yang amat tinggi. PCR merupakan cara amplifikasi DNA, dalam hal ini DNA *Mycobacterium tuberculosis*, secara *in vitro*. Proses ini memerlukan DNA cetakan (*template*) untai ganda yang mengandung DNA target, enzim DNA *polymerase*, nukleotida trifosfat, dan sepasang primer.⁶

Berdasarkan data profil Dinas Kesehatan Provinsi Aceh tahun 2014, ditemukan jumlah kasus baru BTA positif BTA (+) sebanyak 4.062 kasus. Hal ini meningkat dibanding kasus baru BTA (+) yang

ditemukan tahun 2013 sebanyak 3.815 kasus. Dari 23 Kabupaten/ Kota di Provinsi Aceh, Kabupaten Aceh Besar menduduki peringkat ke-4 terbanyak penderita TB dengan 318 kasus.⁷ Pada tahun 2015 ditemukan kembali jumlah kasus BTA (+) sebanyak 4.023 kasus. Hal ini menurun dibanding kasus baru BTA (+) yang ditemukan tahun 2014, namun Kabupaten Aceh Besar menduduki peringkat ke-3 terbanyak penderita TB dan menyumbang 34 % jumlah seluruh kasus baru di Aceh.⁸

Data penderita TB paru yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Kabupaten Aceh Besar sampai bulan Juni tahun 2015 sebanyak 166 penderita. Puskesmas PRM Darul Imarah tercatat 23 kasus. Data penderita TB yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Kabupaten Aceh Besar sampai dengan bulan Juni tahun 2015 tercatat 166 penderita, jumlah penderita TB sebanyak 46 kasus berdasarkan 3 (tiga) Puskesmas PRM yaitu Puskesmas PRM Seulimuem 18 kasus, Puskesmas PRM Darul Imarah 23 Kasus dan Puskesmas PRM Sukamakmur 5 kasus.⁹ Pada penderita TB paru setelah dilakukan pengobatan 2 bulan dan di diagnosis kembali dengan pemeriksaan mikroskopis sering tidak ditemukan lagi BTA nya (BTA negatif). Untuk membuktikan keakuratan lebih lanjut, maka perlu dilakukan pemeriksaan PCR.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional* dengan pendekatan deskriptif analitik. Penelitian dilakukan selama Januari

sampai Agustus 2016. Penelitian bertujuan untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan pemeriksaan mikroskopik dan teknik PCR pada penderita tuberkulosis paru di puskesmas Darul Imarah, Kabupaten Aceh Besar. Populasi penelitian adalah semua pasien TB aktif yang sudah menjalani pengobatan 2 bulan sampai 6 bulan di Puskesmas Darul Imarah Kabupaten Aceh Besar. Penetapan sampling dilakukan menggunakan *purposive sampling* dengan kriteria inklusi pasien TB yang melakukan pengobatan di puskesmas dan sudah diobati 2 bulan dan pasien TB yang dapat mengeluarkan dahak. Jumlah sampel minimal yang diperoleh dan diperiksa adalah 29 Pasien TB aktif.

Sebelum dilakukan pengambilan sputum kepada responden, tim peneliti memberikan penjelasan mengenai penelitian yang akan dilakukan dan meminta kerelaan responden untuk dapat berpartisipasi dalam penelitian dan menandatangani *informed consent*. Pemeriksaan secara mikroskopis BTA dilakukan oleh tim Puskesmas Darul Imarah Kabupaten Aceh Besar di laboratorium Puskesmas tersebut dan slidanya diperiksa ulang di Laboratorium Loka Litbang Biomedis Aceh oleh tim peneliti. Untuk pemeriksaan dengan teknik PCR dilakukan di Laboratorium Loka Litbang Biomedis Aceh oleh tim peneliti menggunakan sampel sputum penderita TB paru. Prosedur kedua pemeriksaan tersebut berdasarkan standar prosedur tetap pemeriksaan baik untuk mikroskopis maupun PCR. Data dianalisis secara deskriptif.

HASIL

Pemeriksaan BTA dilakukan pada 29 pasien TB aktif yang sudah diobati 2 bulan sampai 6 bulan. Hasil pemeriksaan

Mycobacterium tuberculosis secara mikroskopis, PCR, lama pengobatan dan karakteristik responden dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* secara mikroskopis dan teknik PCR (n = 29 responden)

Variabel	Positif	Persentase (%)	Negatif	Persentase (%)
Jenis Pemeriksaan				
- Mikroskopis	1	3,4	28	96,6
- PCR	19	65,5	10	34,5

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 1 dapat dilihat perbedaan yang sangat signifikan antara pemeriksaan secara mikroskopis dan dengan teknik PCR. Dari jumlah sampel 29 hanya 1 sampel yang positif (3,4%) secara mikroskopis, sedangkan pemeriksaan dengan teknik PCR ditemukan 19 sampel yang positif 65,5.

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 3 menunjukkan bahwa sebagian besar responden TB paru didominasi oleh laki-laki dan kuman *Mycobacterium tuberculosis* juga lebih banyak dideteksi dengan teknik PCR dibanding dengan pemeriksaan mikroskopis.

Tabel 3. Distribusi frekuensi Pemeriksaan Mikroskopis dan PCR berdasarkan jenis kelamin

Jenis kelamin	Frekuensi (n=29)	Mikroskopis		PCR	
		(-)	(+)	(-)	(+)
Laki-laki	21	20	1	8	13
Perempuan	8	8	0	2	6

Tabel 2. Lama pengobatan penderita TB Paru berdasarkan Pemeriksaan Mikroskopis dan PCR

Variabel	Mikroskopis (+)	PCR (+)
Lama Pengobatan		
4 bulan 2 minggu	Tidak	Tidak
5 bulan 3 minggu	Tidak	Ya
5 bulan 23 hari	Tidak	Ya
3 bulan 3 minggu	Tidak	Tidak
5 bulan 22 hari	Tidak	Tidak
4 bulan 2 hari	Tidak	Tidak
4 bulan 2 hari	Tidak	Ya
3 bulan 24 hari	Tidak	Tidak
5 bulan 23 hari	Tidak	Tidak
3 bulan 2 hari	Tidak	Ya
3 bulan 3 hari	Tidak	Tidak
5 bulan 22 hari	Tidak	Ya
5 bulan 22 hari	Tidak	Tidak
4 bulan 1 minggu	Tidak	Ya
2 bulan 1 minggu	Ya	Ya
2 bulan 20 hari	Tidak	Ya
2 bulan 1 minggu	Tidak	Ya
2 bulan 4 hari	Tidak	Ya
5 bulan 24 hari	Tidak	Tidak
4 bulan 2 hari	Tidak	Tidak
5 bulan	Tidak	Ya
4 bulan 2 hari	Tidak	Ya
2 bulan 1 hari	Tidak	Ya
2 bulan 2 hari	Tidak	Ya
2 bulan 7 hari	Tidak	Ya
2 bulan 5 hari	Tidak	Ya
2 bulan 2 hari	Tidak	Ya

2 bulan 26 hari	Tidak	Ya
2 bulan 6 hari	Tidak	Ya

Sedangkan berdasarkan hasil penelitian pada tabel 2 dapat dilihat 1 responden yang positif TB berdasarkan pemeriksaan mikroskopis dan teknik PCR dengan lama pengobatan 2 bulan 1 minggu. Sedangkan pemeriksaan dengan teknik PCR, ditemukan 19 responden yang positif TB dengan lama pengobatan (*range* lebih 2 bulan sampai \leq 4 bulan sebanyak 12 orang, *range* \geq 4 bulan sampai \leq 6 bulan sebanyak 7 orang).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian dari 29 sampel responden TB ditemukan pemeriksaan PCR positif pada 19 orang (65,5%) sampel dan negatif pada 10 (34,5%) sampel responden TB, sedangkan dengan pemeriksaan BTA mikroskopis ditemukan positif 1 (3,4%) sampel responden TB negatif pada 28 (96,6%). Penelitian ini menemukan perbedaan hasil antara mikroskopis dengan teknik PCR. Pemeriksaan dengan teknik PCR diperoleh sebanyak 61 orang (82,4%) menunjukkan hasil positif dan sejumlah 13 orang (17,6%) hasilnya negatif.¹⁰ Pemeriksaan dengan teknik PCR untuk deteksi *Mycobacterium tuberculosis* sangat spesifik, dan telah terbukti perkiraan nilainya 100% positif berdasarkan nilai prediksi.¹¹

Deteksi kuman TBC dengan teknik PCR mempunyai sensitivitas yang amat tinggi.

PCR merupakan cara amplifikasi DNA, dalam hal ini DNA *Mycobacterium tuberculosis*, secara *in vitro*. Proses ini memerlukan DNA cetakan (*template*) untai ganda yang mengandung DNA target, enzim DNA *polymerase*, nukleotida trifosfat, dan sepasang primer. deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dilakukan dengan teknik PCR, mengingat akurasinya yang baik dan membutuhkan waktu pemeriksaan lebih singkat. Hasil negatif pemeriksaan BTA secara mikroskopik sebaiknya dilanjutkan dengan teknik PCR guna menghindari salah diagnosis. Deteksi *Mycobacterium tuberculosis*, baik dengan teknik PCR maupun dengan kultur bakteri secara statistik berbeda bermakna dari deteksi BTA secara mikroskopik. Dengan demikian, *Mycobacterium tuberculosis* dalam sputum sering tidak terdeteksi sebagai BTA secara mikroskopik.⁵

Pemeriksaan mikroskopis sputum BTA yang positif memiliki nilai diagnostik yang tinggi sebagai penunjang diagnosis pasien klinis tuberkulosis paru, akan tetapi hasil pemeriksaan mikroskopis sputum BTA yang negatif belum bisa menyingkirkan diagnosis TB paru. Nilai spesifisitas pemeriksaan mikroskopis BTA tinggi, hal ini menunjukkan bahwa dengan tidak ditemukannya bakteri tahan asam pada sputum yang diperiksa kemungkinan besar menunjukkan tidak

ditemukannya BTA. Nilai spesifisitas yang tinggi pada pemeriksaan mikroskopis BTA menjadi alasan bahwa pemeriksaan mikroskopis BTA masih merupakan metode yang paling baik untuk membantu penegakan diagnosis tuberkulosis secara laboratorium. Nilai sensitivitas pemeriksaan mikroskopis BTA pada penelitian ini relatif rendah karena untuk mendapatkan nilai pemeriksaan mikroskopis BTA positif dibutuhkan adanya bakteri sebanyak 5000 – 10.000 bakteri/ ml sputum.¹²

Berdasarkan hasil penelitian tabel 2 tentang lama masa pengobatan penderita TB paru aktif menunjukkan bahwa penderita yang baru menjalani pengobatan 2 bulan 1 minggu masih positif secara pemeriksaan mikroskopis sedangkan penderita yang sudah menjalani pengobatan diatas 2 bulan 1 minggu hasilnya sudah negatif. Akan tetapi pemeriksaan secara PCR menunjukkan hasil yang berbeda yaitu penderita yang baru menjalani pengobatan ≥ 2 bulan hasilnya masih positif dan masih ada juga penderita TB yang hampir selesai menjalani pengobatan juga masih ditemukan positif TB paru.

Berdasarkan penelitian ini jenis kelamin laki-laki mendominasi responden TB paru yaitu 21 penderita sedangkan perempuan terdapat 8 penderita. Dari hasil pemeriksaan mikroskopis jenis kelamin laki-laki positif 1 responden dan negatif 20 responden, jenis kelamin perempuan negatif 8 responden dan tidak ada yang positif. Hasil pemeriksaan secara PCR jenis kelamin laki-laki positif 13

responden dan negatif 8 responden, untuk jenis kelamin perempuan positif 6 responden dan negatif 2 responden. Dari laporan Riskesdas 2013 berdasarkan karakteristik penduduk Aceh, yang terbanyak didiagnosis TB paru adalah berjenis kelamin laki-laki.¹³ Sebuah studi dari Brazilia juga mendukung hasil penelitian ini, dimana dari 111 penderita TB paru, 80 orang (72,1%) adalah laki-laki.¹⁴ Insiden TB paru dilaporkan lebih tinggi pada laki-laki dibanding perempuan.¹⁵ Hasil penelitian yang dilakukan di 3 PRM di Aceh Besar juga menunjukkan responden yang menderita TB paru lebih banyak terjadi pada penderita laki-laki, yaitu sebesar 71,43 %.¹⁶

KESIMPULAN

PCR sangat spesifik dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis*. Banyak *Mycobacterium tuberculosis* yang tidak terdeteksi dengan pemeriksaan mikroskopis (BTA) dapat dideteksi dengan teknik PCR.

SARAN

Sebaiknya hasil negatif pada pemeriksaan BTA secara mikroskopik dilanjutkan dengan teknik PCR guna menghindari ketidak tepatan diagnosis, mengingat PCR akurasi tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan atas pendanaan penelitian ini, kepala Loka Litbang Biomedis Aceh, Bapak Fahmi Ichwansyah, dan seluruh tim peneliti

dan lintas sektor yang sudah mendukung terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. Global tuberculosis report 2014 WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. *Who*. 2014;1-171. www.who.int/about/.
2. Kemenkes RI. Strategi Nasional Pengendalian Tb. 2014.
3. WHO. *Global Tuberculosis Report 2017*.; 2017. doi:WHO/HTM/TB/2017.23.
4. Price SA, Standridge MP. Tuberculosis paru. In: Hartanto H, Susi N, Wulansari P M DA. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: ECG; 2005.
5. Pengantar K. *Modul Pelatihan Pemeriksaan Dahak Mikroskopis TB*.
6. Jasaputra DK, Onggowidjaja P, Soeng S. Akurasi Deteksi Mycobacterium tuberculosis dengan Teknik PCR menggunakan “Primer X” dibandingkan dengan Pemeriksaan Mikroskopik (BTA) dan Kultur Sputum Penderita dengan Gejala Tuberkulosis Paru. *J Kedokt Maranatha*. 2010;5(1):7-13. <http://majour.maranatha.edu/index.php/jurnal-kedokteran/article/view/65>.
7. Aceh D. *Profil Kesehatan Dinas Kesehatan Prop Aceh*.; 2014.
8. Dinas Kesehatan Provinsi Aceh. *Profil Kesehatan Aceh 2015*. 2016:56.
9. Besar SDDKA. *Laporan Kasus Penderita TB Paru. Dinas Kesehatan Kabupaten Aceh Besar*.
10. I Wayan Putra, EddySurjanto, Suradi TYA. Nilai Diagnostik Pemeriksaan Reaksi Ranatai Polimerase Pada Tuberkulosis Paru Sputum Basil Tahan Asam Negatif. 2008:136-144.
11. Veringa E, Van Harsselaar B, Hermans P. Polymerase chain reaction to detect Mycobacterium tuberculosis in a clinical microbiology laboratory. *J Microbiol Methods*. 1992;16(2):139-147. [http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L22282990%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1016/0167-7012\(92\)90033-Z](http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L22282990%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1016/0167-7012(92)90033-Z).
12. Inayati. Mikroskopis Sputum Bta Pada Pasien Klinis Tuberkulosis Paru Di Rs Pku Yogyakarta, Universitas Muhammadiyah. :102-109.
13. Balitbangkes. *Laporan Riset Kesehatan Dasar Aceh 2013*. 2014.
14. de Mattos IG, Ribeiro MO, Netto ICDO, d’Azevedo PA. Tuberculosis: a study of 111 cases in an area of high prevalence in the extreme south of Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2006;10(3):194-198. doi:10.1590/S1413-86702006000300008.
15. Jiménez-Corona ME, García-García L, DeRiemer K, et al. Gender differentials of pulmonary tuberculosis transmission and reactivation in an endemic area. *Thorax*. 2006;61(4):348-353. doi:10.1136/thx.2005.049452.
16. Fitria E, Ramadhan R, Rosdiana. Karakteristik Penderita Tuberkulosis Paru di Puskesmas Rujukan Mikroskopis Kabupaten Aceh Besar. *J SEL*. 2017;4(1):13-20.